



TITLE:

# 脂質輸送体ABCA1による細胞遊走 制御の機構の解明( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

伊藤, 志帆

---

CITATION:

伊藤, 志帆. 脂質輸送体ABCA1による細胞遊走制御の機構の解明. 京都大学, 2019, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21815>

RIGHT:

( 続紙 1 )

京都大学	博士（農学）	氏名	伊藤 志帆
論文題目	脂質輸送体ABCA1による細胞遊走制御の機構の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>脂質輸送体ATP-Binding Cassette A1 (ABCA1) は、細胞内の過剰なコレステロールを細胞外へ排出して、HDL（いわゆる善玉コレステロール）を産生することで細胞内コレステロール恒常性の維持に重要な役割を果たしている。一方で、ABCA1が増殖、炎症などの細胞機能の調節に関与することが、最近報告された。しかし、そのような細胞機能の調節が、ABCA1によるHDL形成、すなわちコレステロール排出によるのかどうかは明らかではなかった。ABCA1の発現量は、細胞内のコレステロール濃度だけでなく、細胞密度によっても調節されることが報告されている。このことは、ABCA1が細胞内のコレステロール恒常性の維持だけでなく、細胞密度の変化に応答した細胞機能の調節にも関与していることを示唆している。細胞遊走は細胞密度の変化によって調節されており、創傷治癒や胚発生など生理的な現象に関与するだけでなく、がんの転移、動脈硬化巣の形成など病理的な現象にも関与する。そのため、遊走の機構を解明することはヒトの健康を守る仕組みを明らかにするうえで重要である。本研究では、ABCA1の発現量の変化が細胞遊走に影響を与えるかどうかを検討し、その調節に関わる細胞内シグナルを解明した。本論文の主な内容は以下の通りである。</p> <p>まず、ABCA1の発現量が細胞遊走に与える影響について検討した。マウス胚性線維芽細胞 (MEF) を用いて、ABCA1の発現量に対する細胞密度の影響を調べたところ、高密度で培養した時には低密度で培養した時よりもABCA1の発現量が高いことが明らかになった。次に、ABCA1の発現量そのものが遊走能に影響を与えるかを検討するため、ABCA1を発現抑制した細胞株(ABCA1KD細胞)、およびABCA1KD細胞にマウスABCA1を再発現させた再発現細胞株を樹立した。これらの細胞株を用いて創傷治癒アッセイによって細胞遊走能を評価した。その結果、コントロールMEF細胞と比較して、ABCA1KD細胞では細胞遊走能が上昇し、ABCA1再発現細胞ではABCA1KD細胞と比較して細胞遊走能が低下した。これらの結果は、細胞密度が高い時にはABCA1の発現は高く細胞遊走は抑制されているが、細胞密度が低くなるとABCA1の発現量が低下し、細胞遊走が促進されることを示唆している。これらの実験条件下における細胞全体のコレステロール量を測定したところ、細胞内のコレステロール量は変動しなかった。以上の結果から、ABCA1はコレステロールの細胞外への排出を介さずに細胞遊走速度を制御していることが明らかになった。</p> <p>次に、ABCA1による細胞遊走制御に関わる細胞内シグナル分子を解析した。細胞内にコレステロールが過剰に蓄積していない条件においては、ABCA1はコレステロールを排出するのではなく細胞膜内層から外層へ輸送（フロップ）しており、細胞膜内層</p>			

のコレステロール濃度を外層より低く維持していることが、最近報告された。さらに、このようなコレステロール非対称分布が増殖シグナル伝達の調節に重要な役割を果たすことも報告された。これらのことから、「ABCA1は細胞膜のコレステロール分布を変えることによって、遊走に関わるシグナル分子の活性調節を介して、遊走を制御する」という仮説を立て、ABCA1による細胞遊走の制御に関わるシグナル分子を探索した。

細胞膜上でコレステロールによって活性の制御を受け、かつ細胞遊走の制御に関わる分子として低分子量Gタンパク質の一つであるRac1にまず着目した。ABCA1の発現量がRac1の活性に影響を与えるか調べるために、GTP結合型（活性型）Rac1を検出した。ABCA1KD細胞ではコントロールMEFと比較して活性型Rac1が増加し、ABCA1再発現細胞ではABCA1KD細胞と比較して活性型Rac1が減少していた。Rac1は活性化すると界面活性剤不溶性画分（DRM）に局在することが報告されているため、次にABCA1が活性型Rac1のDRM局在に与える影響を調べた。密度勾配超遠心法によってDRM画分に含まれるRac1量を算出したところ、ABCA1KD細胞ではコントロールMEF細胞と比較してDRMに含まれるRac1の量が増加した。これらの結果から、ABCA1の発現抑制によってRac1の活性化およびDRM局在が促進されることが明らかになった。さらに、Rac1に関連して遊走を調節するシグナル分子を調べたところ、ABCA1KD細胞において、コントロールMEF細胞と比較してMAPキナーゼの一つであるERKのリン酸化が上昇することがわかった。またリン酸化ERKの分布を調べたところ、コントロールMEF細胞では傷周辺の細胞においてERKのリン酸化が亢進していたのに対して、ABCA1KD細胞では傷からの距離にかかわらず全ての細胞でERKのリン酸化が亢進していた。さらに、Rac1阻害剤NSC23766およびERK阻害剤U0126を用いた解析から、Rac1の活性化とERKのリン酸化が細胞遊走の促進に関わることが明らかになった。

これらの結果から、ABCA1はRac1の活性化およびERKのリン酸化を介して細胞遊走を制御していることが明らかになった。細胞が高密度状態の時にはABCA1の発現は高く、コレステロールを細胞膜内層から外層へ輸送することで細胞膜内層のコレステロール濃度を低く保っているのに対して、細胞が低密度状態になるとABCA1の発現は抑制され、細胞膜内層のコレステロール濃度が高くなることによって、Rac1とERKが活性化され、細胞遊走が促進されると考えられる。以上のように、生体内において細胞外環境に応答した細胞遊走能の調節に、ABCA1が重要な役割を果たすことが明らかになった。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

脂質輸送体ABCA1は、細胞内の過剰なコレステロールを細胞外へ排出し、細胞内コレステロール恒常性の維持に重要な役割を果たす。一方、ABCA1が増殖や炎症などの細胞機能の調節にも関わることが、最近示唆されている。また、ABCA1の発現量は、細胞内コレステロール濃度だけでなく細胞密度によっても調節されている。細胞密度の変化は細胞の遊走活性に大きな影響を及ぼすが、ABCA1と細胞遊走の関係は明らかではなかった。本論文は、ABCA1の発現量が細胞密度によって制御されていること、および細胞膜コレステロールの分布変化が細胞内シグナル分子の活性に影響することに着目し、ABCA1による細胞遊走活性の調節機構を明らかにしたものであり、評価すべき点は以下の通りである。

1. マウス胚性線維芽細胞 (MEF) において、低密度で培養した細胞では高密度で培養した細胞よりABCA1の発現が低いことを明らかにした。
2. ABCA1による細胞遊走の抑制は、ABCA1によるコレステロールの細胞外への排出によるものではないことを明らかにした。
3. ABCA1の発現抑制は、細胞内シグナル分子であるRac1の活性化およびERKのリン酸化を亢進させることを明らかにした。
4. 創傷治癒アッセイにおいて、傷周辺の細胞におけるERKの活性化が、低密度状態となった傷周辺の細胞においてABCA1の発現が抑制されるために起こることを示唆した。

以上のように、本論文は脂質輸送体ABCA1の発現量の変化が、細胞密度の変化による細胞遊走活性の調節に関与すること、さらに細胞内シグナル分子Rac1とERKがその調節に関わることを明らかにしたものであり、分子細胞生物学、細胞生化学および基礎生理学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成31年2月16日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）